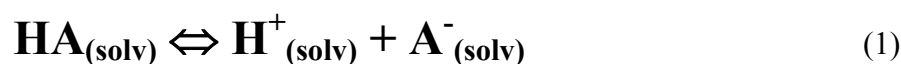


# Stanovení disociační konstanty acidobazického indikátoru

## Teorie:

Slabé kyseliny nebo báze disociují ve vodných roztocích jen omezeně; kvantitativní mírou je hodnota disociační konstanty. Disociační reakci a příslušející disociační konstantu můžeme vyjádřit rovnicemi:



$$K = \frac{a_{\text{H}^+_{(\text{solv})}} \cdot a_{\text{A}^-_{(\text{solv})}}}{a_{\text{HA}_{(\text{solv})}}} \quad (2)$$

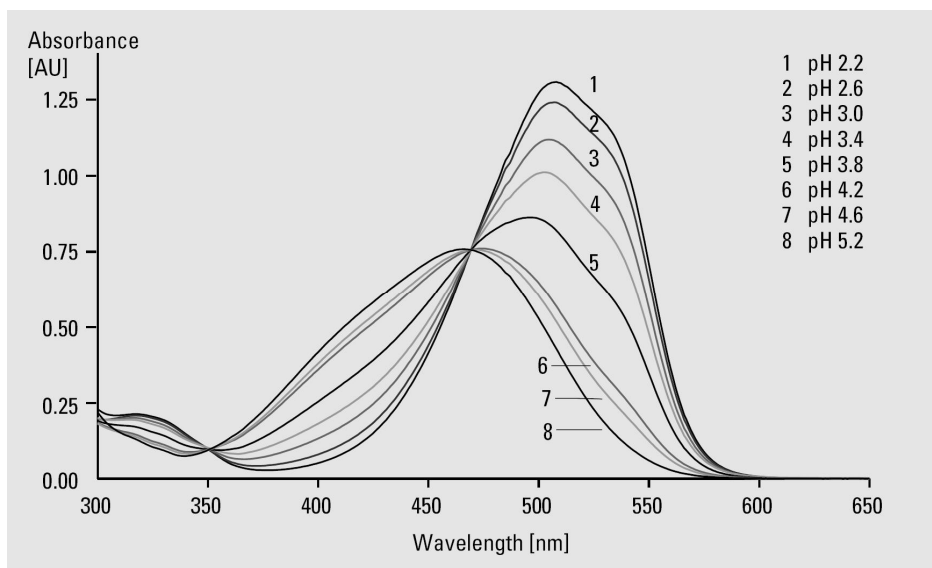
$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{a_{\text{A}^-_{(\text{solv})}}}{a_{\text{HA}_{(\text{solv})}}} \quad (3)$$

Hodnotu disociační konstanty lze tedy vypočítat změřením aktivit solvatovaného protonu, aniontu kyseliny a nedisociované formy kyseliny.

Absorbuje – li solvatovaná forma aniontu, či nedisociované kyseliny elektromagnetické záření ve vhodné oblasti vlnových délek, je možno k měření použít spektrofotometrickou metodu.

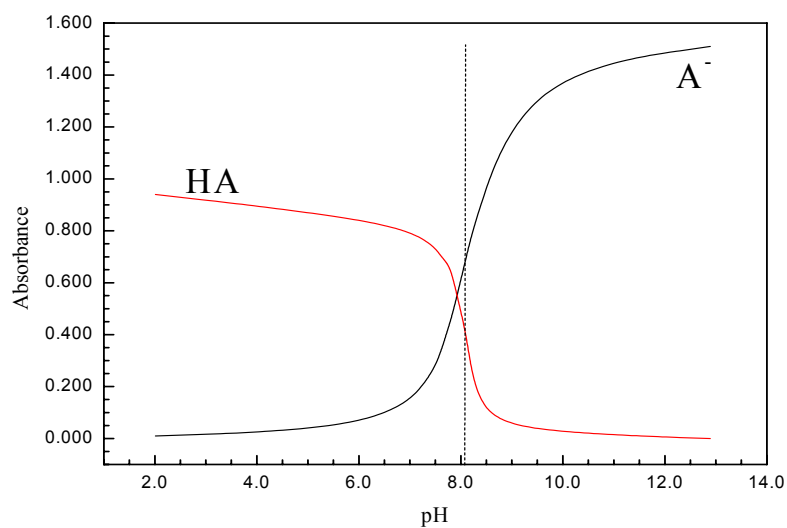
Se změnou pH se bude rovnováha popsaná rovnicí (1) posunovat doleva nebo doprava. V silně kyselém prostředí tedy bude množství  $a_{\text{A}^-_{(\text{solv})}}$  velmi malé, zatímco v zásaditém prostředí bude zanedbatelné množství  $a_{\text{HA}_{(\text{solv})}}$ .

Vlnovou délku odpovídající jednoduché rovnováze  $\text{A}^-/\text{HA}$  označujeme jako isosbestický bod a v tomto bodě se budou protínat všechny křivky závislosti absorbance na vlnové délce  $\lambda$  (Obr. č. 1).



**Obr. č. 1:** Absorpční spektra roztoků methylové oranže při různých hodnotách pH roztoku

Intenzita zabarvení při vlnové délce odpovídající absorpci  $A^-_{(\text{solv})}$  se bude zvětšovat se zvyšujícím se pH, zatímco pro  $HA_{(\text{solv})}$  se bude snižovat se zvyšujícím se pH.



**Obr. č. 2:** Závislost absorbance disociované formy ( $A^-$ ) a nedisociované formy ( $HA$ ) na hodnotě pH roztoku (měřeno při vlnových délkách maxim disociované formy ( $A^-$ ) a nedisociované formy ( $HA$ ))

Závislost absorbance kterékoliv formy ( $A^-_{(\text{solv})}$ ,  $HA_{(\text{solv})}$ ) na pH bude sigmoidní křivka

symetrická podle bodu inflexe (Obr. č. 2), ve kterém je  $pK = pH$ , neboť  $\log(a_{A^-}^{(solv)}/a_{HA(solv)}) = 0$ , viz rovnice (3). Z uvedeného vyplývá, že je několik možných metod zjištění  $pK$ .

Pro analytickou koncentraci indikátoru platí:

$$c_{HA} = [HA] + [A^-]$$

a měřená hodnota absorbance při určité vlnové délce je:

$$A = \epsilon_{HA} \cdot [HA] + \epsilon_{A^-} \cdot [A^-]$$

Výraz pro disociační konstantu můžeme přepsat do tvaru:

$$K = c_{H^+} \cdot \frac{A_\lambda - \epsilon_{HA} \cdot c_{HA}}{\epsilon_{A^-} \cdot c_{HA} - A_\lambda}$$

## Úkol:

Zjistěte hodnotu disociační konstanty vzorku acidobazického indikátoru. Použijte spektrofotometrickou metodu.

## Chemikálie a přístroje:

Standardní Britton – Robinson pufr daných hodnot  $pH$ , který připravíme smícháním složky **A** a **B** ve vhodném poměru. Roztok **A** obsahuje  $0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  NaOH a roztok **B**:  $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$  a  $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ . Pro požadované  $pH$  smísíme 50 ml roztoku **B** s  $x$  ml roztoku **A**, podle následující tabulky:

pH	x ml A	pH	x ml A	pH	x ml A	pH	x ml A
1,81	0	4,35	13,75	7,00	26,25	9,91	38,75
1,89	1,25	4,56	15	7,24	27,5	10,38	40
1,98	2,5	4,78	16,25	7,54	28,75	10,88	41,25
2,09	3,75	5,02	17,5	7,96	30	11,20	42,5
2,21	5	5,33	18,75	8,36	31,25	11,40	43,75
2,36	6,25	5,72	20	8,69	32,5	11,58	45
2,56	7,5	6,09	21,25	8,95	33,75	11,70	46,25
2,87	8,75	6,37	22,5	9,15	35	11,82	47,5
3,29	10	6,59	23,75	9,37	36,25	11,92	48,75
3,78	11,25	6,80	25	9,62	37,5	11,98	50
4,10	12,5						

## **Dosaženou hodnotu pH pufry vždy kontrolujeme pH metrem!**

Spektrofotometr Pye-Unicam PU 8800 (Philips-Unicam, Cambridge, Anglie) připojený k řídicímu počítači a ovládaný vytvořeným software. Skleněné kyvety s tloušťkou absorpční vrstvy 10,00 mm.

Laboratorní pH metr pHM 82 (Radiometer, Copenhagen, Dánsko) s kombinovanou skleněnou elektrodou, nakalibrovaný standardními kalibračními roztoky o pH 7,00 a 4,00 (oboje téže firmy).

50 ml odměrné baňky, automatická byreta, kádinky, automatické pipety.

## **Pracovní postup:**

1. Provedeme orientační měření, při kterém nejdříve zjistíme zabarvení disociované a nedisociované formy indikátoru: v kádinkách v malém množství kyselé složky **B** Britton-Robinsonova pufry i alkalické složky **A** rozpustíme trochu vzorku indikátoru a zapíšeme si zabarvení jak disociované (alkalické) tak nedisociované (kyselé) formy indikátoru. Dále pak zjistíme alespoň přibližnou hodnotu pH pro barevný přechod indikátoru. Přitom vycházíme z rovnice (3). Přibližné určení hodnoty pK provedeme takto: do menší kádinky, která se vejde pod hlavicí pH metru, odměříme odměrným válcem 50 ml kyselé složky **B** Britton-Robinsonova pufry a přidáme 1 ml vzorku indikátoru. K takto připravenému roztoku budeme z automatické byrety přidávat alkalickou složkou **A** pufry a budeme sledovat změny zabarvení vzorku indikátoru; změní-li indikátor zabarvení tak, že tato barva bude odpovídat přibližnému zastoupení disociované a nedisociované formy v poměru 1 : 1, odečteme hodnotu pH. Tato hodnota odpovídá přibližně hodnotě pK.

2. Známe-li přibližnou hodnotu pH barevného přechodu, připravíme do 50 ml odměrných baněk zásobní roztoky proměřovaného vzorku; výsledná koncentrace je vždy uvedena na lahvičce se vzorkem indikátoru. Odměrky s indikátorem doplníme po rysku připraveným indikátorem o určité hodnotě pH. pH pufrů volíme tak, abychom obsáhli barevný přechod indikátoru ( $\pm 1,5$  jednotky pH od orientačně určené hodnoty pK) a dále pH disociované  $A^-$  (solv) a nedisociované HA(solv) formy.

3. Pečlivě proměříme spektra ve viditelné oblasti všech dvanácti roztoků a z nich odečteme polohu maxim absorpance pro disociovanou a nedisociovanou formu a polohu isobestického bodu. Ovládání spektrometru a řídicího software je popsáno níže.

4. Při vlnových délkách absorpčních maxim a pro hodnoty pH, při kterých předpokládáme jen disociovanou a jen nedisociovanou formu indikátoru, proměříme koncentrační závislosti. V alkalické oblasti volíme koncentrační rozsah tak, aby nejvyšší bod kalibrace odpovídal vyznačené koncentraci na lahvičce se vzorem indikátoru. V kyselé oblasti pak volíme koncentrační rozsah tak, aby nejvyšší bod kalibrace odpovídal dvojnásobku uvedené koncentrace (nižší hodnota molárního absorpčního koeficientu pro vlnovou délku nedisociované formy).

## **Ovládání spektrofotometru a řídicího software:**

Registrační spektrofotometr PU 8800, na kterém proměřujeme spektra a kalibrační závislosti, může pracovat samostatně bez nutnosti připojení řídicího počítače; v tomto případě však není možné provést elektronické vyhodnocení změřených spekter ani kalibračních závislostí. Pro komunikaci s počítačem je spektrometr vybaven sériovým rozhraním RS-232C, přes které je možné počítač řídit, nastavovat podmínky měření, spouštět měření a také sbírat naměřená data. Pro oboustrannou komunikaci se spektrometrem je možné použít řídicí program vytvořený v grafickém programovacím prostředí LabView proWindows firmy National Instruments.

Postup je následující: nejdříve zapneme spektrometr hlavním vypínačem a počkáme na proběhnutí testovacího programu; zapneme řídicí počítač a přihlásíme se do profilu „Praktika“.

Provedeme inicializaci spojení spektrometru - na panelu spektrometru postupně zmáčkneme následující tlačítka: „\*“, „MODIFY“, „ENTER“, „ENTER“ a otočíme klíčkem do polohy „LOCK/REMOTE“. Tímto je spektrometr přepnut do modu řízení počítačem. Do kyvetového prostoru vložíme obě kyvety naplněné destilovanou vodou.

Na počítači spustíme program „LabView“ a po jeho inicializaci otevřeme vytvořený program „Měření spekter.vi“ uložený v adresáři „Praktika“.

Na čelním panelu tohoto programu můžeme přímo navolit parametry měření: „Počáteční vlnová délka: 700 nm“, „Konečná vlnová délka: 400 nm“, „Rychlost snímání spektra: 5 nm/s“, „Šířka spektrálního intervalu: 1 nm“, „Krok digitalizace spektra: 1 nm“ a odeslat je do spektrometru tlačítkem „Parametry měření“ nebo můžeme z nabídky vybrat přednastavený soubor parametrů „Praktika 1“ a přímo je odeslat do spektrometru. Tlačítkem „Base line“ vynulujeme základní linii v měřeném rozsahu vlnových délek. Vložíme kyvetu s prvním měřeným roztokem a tlačítkem „Měření“ odstartujeme měření spektra.

V dialogovém okně musíme vyplnit název ukládaného souboru. Po skončení měření se výsledné spektrum objeví na obrazovce počítače a zároveň je uloženo na harddisk počítače. Postupně proměříme všechny roztoky.

## Vyhodnocení výsledků:

Z digitalizovaných spekter odečteme příslušné hodnoty absorbancí při vlnových délkách obou absorpčních maxim a vyneseme je proti pH. Podobně vyhodnotíme spektra z kalibračních závislostí. Všechny změřené závislosti zpracujeme graficky. Ze všech změřených závislostí vyhodnotíme:

- $\lambda_{\max}$  pro  $A^-_{(\text{solv})}$  a  $HA_{(\text{solv})}$
- isosbestický bod
- molární absorpční koeficient ( $\epsilon_{\lambda}$ ) pro  $A^-_{(\text{solv})}$  a  $HA_{(\text{solv})}$  při obou maximech absorpce
- hodnotu pK graficky i výpočtem z hodnot  $\epsilon_{\lambda}$ .

Pro výpočet disociační konstanty použijeme hodnoty změřené jen při pH roztoků pufrů v okolí inflexního bodu dané závislosti  $A_{\lambda}$  na pH.