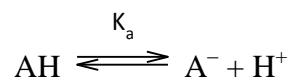


Spektrální stanovení disociační konstanty 3-nitrofenolu

Teorie:

Měření disociačních konstant:



Matematicky lze disociační rovnováhy popsat Henderson-Hasselbalchovou rovnicí:

$$K_a = \frac{[\text{A}^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{AH}]} \quad pK_a = pH - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} = pH - \log I$$

Hodnotu pH stanovíme měřením (skleněná elektroda) nebo u zředěných kyselin a zásad vypočteme z definice pH . Experimentálně lze disociační konstanty stanovit spektrálně, potenciometricky, konduktometricky, či kineticky. Chceme-li spektrálně stanovit pK_a , měříme elektronová spektra UV/VIS roztoku slabé kyseliny (zásady) při různých hodnotách pH . Platí Lambert–Beerův zákon:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Při vlnové délce maximální změny absorbance se provede výpočet $\log I$ a jeho dosažení do Henderson-Hasselbalchovy rovnice:

$$A_{A^-} = \varepsilon_{A^-} \cdot c \cdot l \quad A_{AH} = \varepsilon_{AH} \cdot c \cdot l$$
$$\varepsilon_{A^-} = \frac{A_{A^-}}{c \cdot l} \quad \varepsilon_{AH} = \frac{A_{AH}}{c \cdot l}$$

$$A = \varepsilon_{AH} \cdot c_{AH} \cdot l + \varepsilon_{A^-} \cdot c_{A^-} \cdot l$$
$$c = c_{AH} + c_{A^-}$$

$$A = \frac{A_{AH}}{c \cdot l} (c - c_{S^-}) \cdot l + \frac{A_{A^-}}{c \cdot l} \cdot c_{S^-} \cdot l$$
$$c_{S^-} = [\text{A}^-] = \frac{(A - A_{AH}) \cdot c}{A_{A^-} - A_{AH}}$$

Analogicky platí:

$$c_{AH} = [\text{AH}] = \frac{(A - A_{A^-}) \cdot c}{A_{AH} - A_{A^-}}$$

A tedy:

$$\log I = \log \frac{A - A_{AH}}{A_{A^-} - A}$$

Pro různá pH se vypočtou příslušné hodnoty pK_a a určí se střední hodnota, nebo se vynese závislost $\log I$ vs. pH a průsečík s osou x udává pK_a .

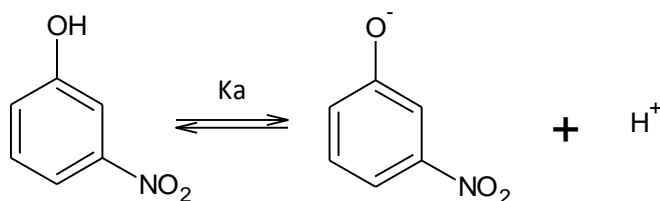
pH - pH pufru

A - absorbance v daném pufru

A_{AH} - absorbance protonované formy

A_{A^-} - absorbance disociované formy

V prostředí tris(hydroxymethyl)aminomethanového pufru vyjadřuje disociační rovnováhu 3-nitrofenolu rovnice:



Při spektrofotometrickém stanovení využíváme faktu, že protonovaná a neprotonovaná forma absorbují při různých vlnových délkách. K určení konstanty je třeba změřit absorpční spektrum obou forem a poté proměřit spektra v pufrách o známém pH . Hodnoty absorbance zaznamenáváme při vlnové délce, kdy je jejich změna největší. Výhodné je také provést odečet mezi dvěma isosbestickými body. Zprůměrováním jednotlivě vypočtených disociačních konstant získáme skutečnou disociační konstantu.

Postup:

1. Připravte zásobní roztoky 0,1M HCl, 0,1M NaOH a 0,1 M tris(hydroxymethyl)aminomethanu (Trisu) ředěním standardizovaných 1M roztoků.
2. Z 0,1 M HCl a 0,1 M tris(hydroxymethyl)aminomethanu připravte sérii 8 pufrů, (viz tabulka) v rozmezí pH 7 – 9, jejichž přesné pH stanovte pomocí pH metru.
3. Připravte zásobní roztok vzorku smísením 3-nitrofenolu a methanolu tak, aby výsledná absorbance ležela v rozmezí 0,2 – 0,8.
4. Na spektrometru změřte UV-Vis spektrum nastříknutím 10 μ l roztoku 3-nitrofenolu v CH_3OH (2,8 g v 10 ml) do odpipetovaných 2 ml příslušného roztoku.
5. Při vhodné vlnové délce odečtěte hodnoty absorbancí a zkonstruuje závislost $\log I$ vs. pH . Určete rovnovážnou disociační konstantu 3-nitrofenolu.

Tabulka pro přípravu pufrů*:

| pH pufru (teoretické) | Roztok 0,1 M HCl (ml) | Roztok 0,1 M Trisu (ml) |
|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| 7,00 | 15 | 14 |
| 7,30 | 15 | 13 |
| 7,60 | 15 | 11,5 |
| 7,90 | 15 | 9,6 |
| 8,20 | 20 | 9,2 |
| 8,50 | 20 | 5,8 |
| 8,80 | 25 | 4,3 |
| 9,00 | 25 | 2,9 |

*Roztoky se pipetují do 50ml odměrné baňky a doplní se redestilovanou vodou po rysku.

Literatura:

1. Hanusek J.: *Přednášky z Fyzikální organické chemie*, 2012, Univerzita Pardubice.
2. Štěrbá, V.; Hrabík, O.; Kaválek, J.; Mindl, J.; Williams, A.: *Org. Biomol. Chem.*, 1, 415-421, 2003.